

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. G. Töndury

Arbeit unter Leitung von P.D. Dr. med. R. Schenk

**Das Verhalten
der Ribonukleinsäure während
der normalen Entwicklung des
Neuralrohres bei Triton alpestris**

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

DOKTORWÜRDE DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT ZÜRICH

VORGELEGT VON

SILVIO VINZENS

VON LUVEN (GR.)

GENEHMIGT

AUF ANTRAG VON HERRN PROF. DR. G. TÖNDURY

ZÜRICH 1953

BRUNNER & BODMER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. G. Töndury

Arbeit unter Leitung von P.D. Dr. med. R. Schenk

**Das Verhalten
der Ribonukleinsäure während
der normalen Entwicklung des
Neuralrohres bei Triton alpestris**

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

DOKTORWÜRDE DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT ZÜRICH

VORGELEGT VON

SILVIO VINZENS

VON LUVEN (GR.)

GENEHMIGT

AUF ANTRAG VON HERRN PROF. DR. G. TÖNDURY

ZÜRICH 1953

BRUNNER & BODMER



INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	Seite 4
Material und Methode	5
Untersuchungsergebnisse	6
Numerische Auswertungen	6
Verteilungsverhältnisse der RNS	12
A. Verhalten der RNS während der Neurulation	13
B. Weiterentwicklung im Rückenmark	27
C. Weiterentwicklung im Hirnrohr	30
Besprechung der Ergebnisse	34
Literatur	39

EINLEITUNG

Seit den grundlegenden Untersuchungen von BRACHET, CASPERSSON u. a. wird dem Nukleinsäurestoffwechsel der tierischen Zelle eine grosse Bedeutung bei Proliferations- und Wachstumsvorgängen zuerkannt. Nukleinsäuren kommen in embryonalen Zellen in zwei Formen vor: das Vorhandensein von Thymo- oder Desoxyribonukleinsäure (DNS) in tierischen Zellen ist schon seit längerer Zeit bekannt, während der Nachweis von Ribonukleinsäure (RNS), die Anfangs des Jahrhunderts in der Hefezelle festgestellt wurde, jüngeren Datums ist (BRACHET 1931). DNS wird nur im Zellkern gefunden, während RNS hauptsächlich im Cytoplasma und im Nukleolus vorkommt.

Von verschiedenen Autoren wie BRACHET, CASPERSSON, NOVIKOFF und POTTER wird heute ein Zusammenhang der RNS mit der zellulären Eiweissynthese angenommen. Aus einer Aenderung des Verteilungsbildes und einer deutlichen Mengenabnahme der RNS während der Mitose schloss BRACHET auf eine Beteiligung der RNS am Aufbau der DNS, eine Ansicht, die aber nach neuesten Untersuchungen wieder in Zweifel gezogen wird (BRACHET 1952). Dass Nukleinsäureumsetzungen beim Kernteilungsvorgang eine Rolle spielen, hatte vor BRACHET bereits CASPERSSON betont.

Auch Störungen im Mitoseablauf, wie sie v. MÖLLENDORFF an Fibrocytenkulturen und TÖNDURY an Keimen von *Triton alpestris* unter dem Einfluss männlicher und weiblicher Sexualhormone beobachtet haben, wurden mit Störungen des Nukleinsäurestoffwechsels in Zusammenhang gebracht. CAGIANUT (1949) konnte bei gleichzeitiger Zugabe von RNS die durch Oestradiol hervorgerufenen Störungen im Mitoseablauf in günstigem Sinne beeinflussen. Betrug bei sich furchenden Eiern, die der Wirkung von Oestradiol in Konzentrationen von 1 : 200 000 bis 1 : 500 000 ausgesetzt worden waren, die Zahl der gestörten Mitosen bis 80 %, so wurde dieser hohe Prozentsatz bei Zugabe von Natriumnukleinat in einer Konzentration von 1 : 20 000 auf 10 bis 16 % herabgedrückt.

Das Verteilungsbild der Nukleinsäuren in der Zelle kann mit Hilfe verschiedener Färbemethoden untersucht werden. In der Feulgenfärbung besitzen wir eine spezifische Färbung für DNS, in der Methylgrün- Pyroninfärbung (MPF) im Gemisch nach UNNA eine solche für DNS und RNS. Die Spezifität der beiden Färbungen kann mit Behandlung durch Thymo- bzw. Ribonuklease erhärtet werden.

Durch einen fermentativen Prozess werden die Nukleinsäuren verändert, so dass dann die Färbung negativ ausfällt oder sekundär wieder gelöscht werden kann.

Aus der Intensität der Färbung und der Dichte und Lagerung der nukleinsäurehaltigen Strukturen kann bedingt auch auf die Menge geschlossen werden. In letzter Zeit sind zwar quantitativ-chemische Methoden zur Bestimmung des RNS-Gehaltes ausgearbeitet worden. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen gelten aber nur für ganze Keime und sagen nichts aus über die Menge in einzelnen Keimbezirken oder gar Zellen.

Wir haben das Verhalten der RNS während der ungestörten Entwicklung des Neuralrohrs bei *Triton alpestris* untersucht, wie dies in ähnlicher Weise RICKENBACHER (1951/52) für die Augenentwicklung bei Triton und beim Hühnchen durchführte. Unsere Aufgabe bestand darin, das Verteilungsbild der RNS in verschiedenen Stadien der Neuralrohrentwicklung zu prüfen und in Beziehung zu setzen mit Vorgängen des Wachstums und der Differenzierung.

MATERIAL UND METHODE

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir Keime von *Triton alpestris*. Die Eier wurden kurze Zeit nach ihrer Ablage enthüllt, zur weiteren Entwicklung in gewöhnliches Brunnenwasser übertragen und so lange darin belassen, bis sie die äusseren Merkmale der Stadien 15 bis 41 nach der GLÄSNER'schen Normentafel aufwiesen. Fixation in Carnoy während einer Stunde, Paraffineinbettung. Schnittdicke 10 μ .

Die Schnittserien wurden zum grossen Teil mit Methylgrün-Pyronin im Farbgemisch nach UNNA gefärbt (Färbedauer ca. 20 Stunden). Zum kleineren Teil wurden die Schnitte in eine gepufferte, auf pH 4,7 eingestellte Farblösung gebracht. Diese Methode ergab dank der schwächeren Anfärbung der Dotterschollen klarere Bilder, fiel aber häufig etwas unregelmässig aus.

Bei der angewandten Methode werden die RNS enthaltenden Strukturen durch das Pyronin leuchtend rot, die DNS-haltigen durch das Methylgrün grünblau gefärbt. Zur Kontrolle der Spezifität der Rotfärbung von RNS-haltigen Strukturen durch das Pyronin verwendeten wir kristallisierte Ribonuklease, die wir in einer Konzentration von 1 : 10 000 während einer Stunde bei 60 Grad Celsius auf die Schnitte einwirken liessen.

In der folgenden Beschreibung unserer Befunde sind die untersuchten Stadien durch Nummern gekennzeichnet, die sich auf die Normentafel von GLÄSNER beziehen.

UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

Unsere Untersuchungen beziehen sich auf die Stadien 15 bis 41. Sie erfassen also nur einen Ausschnitt aus der Neuralrohrentwicklung, der mit dem Stadium der Medullarplatte beginnt und in einem Stadium aufhört, in dem bereits ein breiter Randschleier um das Neuralrohr herum nachweisbar ist. Die numerische Auswertung der Mitose- und Kernzahlen soll Aufschluss geben über Zeitpunkt und Ausmass der Proliferationsvorgänge in der Neuralanlage. In einem zweiten Abschnitt wird auf die Verteilungsverhältnisse der RNS und die Lokalisation der Mitosen im Querschnittsbild näher eingegangen.

NUMERISCHE AUSWERTUNGEN

Durch mehrfache Zählungen bestimmten wir die Anzahl der Mitosen in sechs aufeinanderfolgenden Schnitten des vordern, mittleren und hinteren Neuralrohrdrittels verschiedener Keime des gleichen Entwicklungsalters. Aus den gewonnenen Werten errechneten wir den Mittelwert für einen gedachten Querschnitt sowohl der Mitosen des ganzen Neuralrohrs als auch der einzelnen Drittel gesondert.

In Kurve 1 ist die Anzahl der Mitosen pro Querschnitt für das ganze Neuralrohr eingetragen. Diese nimmt während der Neurulation nur unwesentlich zu. Eine starke Vermehrung der Mitosen wird erst in einem Stadium sichtbar, das äusserlich durch die erste Anlage der Schwanzknospe und einen schon merkbar abgesetzten Kopf mit deutlich sichtbaren Augenblasen gekennzeichnet ist (ca. Stadium 21). Sie erreicht ein Maximum im Stadium 25, das äusserlich 10 bis 12 Urwirbel erkennen lässt. In der weiteren Entwicklung nehmen die Mitosezahlen langsam aber deutlich wieder ab. Im Stadium 41 (Keim mit breitem plumpem Kopf, stark hervortretendem Unterkiefer, 3 bis 4 Kiemenästen) ist die Anzahl der Mitosen gegenüber dem beschriebenen Maximum im Stadium 25 schon um mehr als die Hälfte gesunken.

Aus der kurvenmässigen Darstellung der Mitosezahlen der einzelnen Neuralrohrdrittels (Kurve 2) geht hervor, dass die Mitosen im Bereich des Hirnrohres schon Ende der Neurulation an Zahl stark zugenommen haben und weiter zunehmen bis zu einem Maximum im Stadium 25, wo sie bis zum fünffachen Ausgangs-

wert ansteigen. Nachher fallen sie ziemlich unvermittelt wieder ab und sinken im Stadium 27 wieder auf den doppelten Ausgangswert. Sie steigen zwar in der Folge im Stadium 35 wieder etwas an, doch erachten wir einen solchen Anstieg als in der normalen Streuung liegend, wie sie durch unsere Untersuchungsmethoden bedingt ist.

Bei Betrachtung der Verhältnisse der beiden hintern Drittel des Nervenrohres sehen wir, dass zwar auch in ihnen ein unverkennbarer Anstieg der Mitosezahlen erfolgt. Dieser setzt aber zeitlich später ein und macht in seinem Ausmass nur einen Bruchteil des Anstieges im Hirnabschnitt aus. Eine namhafte Mitosenvermehrung erfolgt erst ca. im Stadium 23. Sie fällt aber zahlenmässig nicht stark ins Gewicht und bleibt bis zum Stadium 41 ziemlich unverändert.

In den Kurven 3 und 4 haben wir die Relation der Kernzahlen zum Planimeterwert der jeweiligen Querschnittsflächen des Neuralrohrs aufgetragen. Auch diese Zahlen stellen Mittelwerte dar aus verschiedenen Zählungen (vgl. auch Tabellen 1 bis 4), wobei wir aber jeweils nur einen Querschnitt auswerteten, um in benachbarten Schnitten die gleichen Kerne nicht wieder mitzuzählen. Die Relation Kernzahl/Planimeterwert bedeutet für uns die Anzahl Kerne pro Flächeneinheit und gibt uns ebenfalls ein Bild über das Ausmass und das zeitliche Auftreten der Proliferation im Neuralrohr. Zu berücksichtigen war, dass sich die Relation von ca. Stadium 27 an durch das Auftreten des Randschleiers etwas zu Gunsten der Fläche verschiebt. Von der planimetrierten Nervenrohrquerschnittsfläche wurde die vom Randschleier eingenommene Fläche abgezählt.

Die kurvenmässige Darstellung der Durchschnittswerte für das ganze Neuralrohr (Kurve 3) zeigt deutlich, dass die Kernzahl pro Flächeneinheit während der eigentlichen Neurulation nur ganz unwesentlich ansteigt. Der Hauptanstieg erfolgt auch hier zwischen Stadium 19 und 25. Vom Stadium 25 an ändern sich die Kernzahlen pro Flächeneinheit nicht mehr wesentlich und lassen gegen Schluss der Untersuchungsreihe eher wieder eine rückläufige Tendenz erkennen, die sich teilweise auch durch das Auftreten des Randschleiers erklärt.

Die Kernzahlen pro Flächeneinheit des vordern Neuralrohrdrittels (Kurve 4) steigen unmittelbar nach Beendigung der Neurulation bis zu Stadium 27 rapid an, um nachher nur noch relativ wenig zuzunehmen. Die beiden hintern Drittel (Kurve 4) verhalten sich weniger charakteristisch, zeigen aber nach beendeter Neurulation ebenfalls eine Zunahme der Kernzahlen pro Flächeneinheit. Die entsprechenden Kurven verlaufen flacher als die Kurve des vordern Neuralrohrdrittels.

Betrachten wir die Kernzahlen und die gefundenen Planimeterwerte gesondert (Tabelle 1 bis 4), so sehen wir, dass sich die Kernzahlen während der Neurulation in allen Neuralrohrdritteln ungefähr gleich verhalten. Sofort nach beendiger

Tabelle 1: Numerische Werte für das ganze Neuralrohr.

Für alle Tabellen gilt: die Zahlen sind Mittelwerte aus verschiedenen Zählungen. Die eingeklammerten Zahlen sind die Extremwerte nach oben und unten.

Stadium	Kernzahl	Planimeterwert	Relation Kernzahl-Planimeterwert	Mitosezahl
15	(69.67) 65.45	(60.67) 18.54	(3.76) 3.53	(3.27) (1.07) 0.97 (0.9)
17	(72.67) 69.00	(64.67) 18.33	(3.96) 3.76	(3.53) (1.0) 0.97 (0.83)
19	(73.33) 70.22	(66.67) 14.81	(4.95) 4.74	(4.5) (1.7) 1.4 (1.2)
21	(95.67) 89.44	(84.33) 13.46	(7.11) 6.65	(6.27) (2.47) 2.39 (2.17)
23	(139.33) 133.11	(128.33) 13.7	(10.17) 9.72	(9.37) (3.2) 3.03 (2.87)
25	(179.33) 170.0	(162.67) 14.47	(12.39) 11.8	(11.24) (3.57) 3.37 (3.23)
27	(209.0) 202.22	(195.67) 16.69	(12.52) 12.12	(11.52) (2.93) 2.5 (2.33)
31	(240.33) 230.78	(222.67) 18.36	(13.09) 12.57	(12.13) (2.57) 2.4 (2.3)
35	(273.33) 261.0	(247.67) 20.79	(13.15) 12.55	(11.91) (2.87) 2.7 (2.63)
41	(310.0) 295.0	(284.0) 23.62	(13.12) 12.48	(12.02) (2.33) 2.1 (2.03)

Tabelle 2: Numerische Werte für das vordere Neuralrohrdrittel.

Stadium	Kernzahl		Plani- meter- wert	Relation Kernzahl- Planimeterwert		Mitosezahl				
15	(86)	78	(65)	30.1	(2.86)	2.59	(2.16)	(1.3)	1.1	(1.0)
17	(90)	84	(70)	28.65	(3.14)	2.96	(2.44)	(1.1)	1.1	(0.9)
19	(90)	85	(78)	24.66	(3.65)	3.44	(3.16)	(2.3)	2.3	(1.9)
21	(145)	130	(119)	21.63	(6.7)	6.01	(5.5)	(4.9)	4.8	(4.6)
23	(238)	220	(216)	22.24	(10.7)	9.89	(9.71)	(5.4)	5.1	(4.8)
25	(332)	310	(302)	24.27	(13.68)	12.77	(12.44)	(6.3)	6.1	(6.0)
27	(430)	422	(408)	29.04	(14.81)	14.54	(14.05)	(4.0)	3.1	(3.0)
31	(506)	490	(478)	33.75	(14.99)	14.52	(14.16)	(3.3)	3.0	(2.8)
35	(580)	560	(528)	35.88	(16.17)	15.61	(14.72)	(4.3)	4.1	(4.0)
41	(690)	640	(630)	43.43	(15.88)	14.74	(14.51)	(3.1)	2.6	(2.5)

Tabelle 3: Numerische Werte für das mittlere Neuralrohrdrittel.

Stadium	Kernzahl	Planimeterwert	Relation Kernzahl- Planimeterwert	Mitosezahl
15	(64)	62	(59)	13.20 (4.85) 4.7 (4.47) (1.0) 0.9 (0.9)
17	(65)	64	(64)	13.34 (4.87) 4.8 (4.8) (1.1) 1.0 (0.8)
19	(68)	66	(63)	11.83 (5.75) 5.58 (5.33) (1.9) 1.0 (0.9)
21	(72)	69	(68)	10.69 (6.74) 6.45 (6.36) (1.3) 1.2 (1.0)
23	(98)	96	(92)	9.92 (9.88) 9.68 (9.27) (2.3) 2.2 (2.0)
25	(106)	100	(95)	10.11 (10.48) 9.9 (9.4) (2.4) 2.2 (2.0)
27	(104)	98	(95)	10.64 (9.77) 9.21 (8.93) (2.6) 2.4 (2.1)
31	(113)	106	(100)	11.02 (10.25) 9.61 (9.07) (2.2) 2.2 (2.1)
35	(124)	115	(108)	13.62 (9.1) 8.44 (7.93) (2.2) 2.0 (2.0)
41	(122)	120	(115)	13.98 (8.73) 8.58 (8.23) (2.0) 1.8 (1.8)

Tabelle 4: Numerische Werte für das hintere Neuralrohrdrütel.

Stadium	Kernzahl		Planimeterwert	Relation Kernzahl- Planimeterwert		Mitosezahl
15	(59)	58	(58)	12.31	(4.79)	4.71 (4.71) (0.9) 0.9 (0.8)
17	(63)	61	(60)	12.11	(5.2)	5.04 (4.95) (0.8) 0.8 (0.8)
19	(62)	61	(59)	7.95	(7.8)	7.67 (7.42) (0.9) 0.9 (0.8)
21	(70)	66	(66)	8.05	(8.7)	8.2 (8.2) (1.2) 1.0 (0.9)
23	(82)	79	(77)	8.93	(9.19)	8.85 (8.63) (1.9) 1.8 (1.8)
25	(100)	94	(91)	9.02	(11.09)	10.42 (10.09) (2.0) 1.8 (1.7)
27	(93)	86	(84)	10.39	(8.95)	8.28 (8.08) (2.2) 2.0 (1.9)
31	(102)	92	(90)	10.31	(9.89)	8.92 (8.73) (2.2) 2.0 (2.0)
35	(116)	111	(107)	12.88	(9.01)	8.62 (8.31) (2.1) 2.0 (1.9)
41	(118)	113	(107)	13.45	(8.77)	8.4 (7.96) (1.9) 1.9 (1.8)

Neurulation steigen sie im Hirnrohr stark und kontinuierlich an, erreichen in Stadium 21 fast den doppelten, im Stadium 23 den dreifachen und schliesslich im Stadium 41 ungefähr den achtfachen Ausgangswert. In den beiden hinteren Dritteln ist dieser Anstieg erst im Stadium 23 sichtbar und in seinem Ausmass viel kleiner als der Anstieg im Hirnrohr. Stadium 41 zeigt für die beiden hinteren Drittel Kernzahlen, die nur schwach doppelt so gross sind wie die Ausgangswerte im Stadium 15.

Analog verhalten sich die Planimeterwerte. Im Hirnrohr beträgt ihre Zunahme ca. 50 % des Ausgangswertes. Die Werte für die beiden hinteren Drittel hingegen liegen im Stadium 41 nur ca. 6 bis 9 % höher als im Ausgangsstadium 15.

Dieser Befund fügt sich widerspruchsfrei in die bekannte Tatsache des Bestehens eines craniocaudalen Entwicklungsfalles im Neuralrohr ein.

Zusammenfassend können wir an Hand der numerischen Auswertungen der Mitosen- und Kernzahlenverhältnisse jetzt schon aussagen, dass eine nennenswerte Vermehrung der Zellen der Neuralanlage erst mit dem Abschluss der Neurulation einsetzt. Die grösste Intensität zeigt diese Proliferationsphase in ihrem Beginn. Mit dem Zeitpunkt, in dem der Keim seine ersten Bewegungen ausführt, nimmt die Proliferationsfähigkeit kleinere Werte an.

VERTEILUNGSVERHÄLTNISSE DER RNS

Nach Untersuchungen von CASPERSSON, RÜCKENBACHER u. a. sind intensiv sich teilende, d. h. in voller Proliferation befindliche Zellen besonders reich an RNS, während Zellen, die ihre Teilungsfähigkeit eingebüsst haben und in Differenzierung begriffen sind, ihren RNS-Gehalt weitgehend verlieren. Durch die Anwendung der MPF wird es möglich, den Ablauf der Proliferations- und Differenzierungsvorgänge im Neuralrohr auf Grund der Verteilung der RNS-haltigen Strukturen und der Lokalisation der Mitosen genauer zu analysieren. Methodisch sind wir so vorgegangen, dass wir in 12 aufeinanderfolgenden Schnitten durch das Neuralrohr die Mitosen auszählten und ihre Lage synoptisch in einen der untersuchten Regionen entsprechenden Querschnitt eintrugen. Im gleichen Querschnitt brachten wir durch Punktierung schematisch die Verteilungsverhältnisse der RNS zum Ausdruck. Die sich ergebenden Befunde werden durch eine Anzahl Mikrophotographien belegt. Leider ist es technisch nicht möglich, die Abstufung der Rotfärbung im Schwarzweissbild so prägnant wiederzugeben wie sie in den Originalpräparaten in Erscheinung tritt.

A. Verhalten der RNS während der Neurulation

Wir haben unsere Untersuchungen im Stadium 15 begonnen. Die Medullaranlage hat in dieser Phase äusserlich gesehen die Form einer Schuhsohle. Die seitlichen Medullarwülste sind schon sehr deutlich und in Keimmitte leicht genähert. In den folgenden Stadien kommt es zu weiteren Konvergenzbewegungen, bis schliesslich die Wülste in der ganzen Länge des Keimes einander berühren: wir sprechen von der Medullarrinne. Durch Nahtbildung und Verlagerung in die Tiefe entsteht das Medullarrohr, das sich in die Hirn- und Rückenmarksanlage gliedert, ein Stadium, das dem GLÄSNER-Stadium 19 bis 20 entspricht.

Histologisch ergeben sich folgende Besonderheiten: die einschichtige Medullarplatte baut sich aus langgestreckten prismatischen Zellen auf, die gegen die Mitte der Platte zu niedriger werden und auch in craniocaudaler Richtung Grösßenunterschiede aufweisen. Vorn, d.h. im Bereiche der Hirnplatte, sind sie bedeutend grösser als im Bereich der Rückenmarksanlage. Während der Auffaltung der Medullarwülste ändert sich diese Zellform. Die Hauptmasse des Cytoplasmas der Zellen medial der seitlichen Wülste sammelt sich an der ventralen Oberfläche an und nur dünne, stark pigmentierte Plasmaausläufer stellen die Verbindung mit der dorsalen Fläche her. Im Rinnenstadium sind die Zellen der Medullaranlage kolbenförmig und richten sich mit ihren Hälsen radiär gegen die Rückenseite (vgl. Abb. 1).

Die Medullarplatte wird von der Chordamesodermplatte unterlagert, die sich im Verlaufe der Neurulation, von cranial nach caudal fortschreitend, in die Chorda und die Anlage der Ursegmente gliedert.

Im weitem Verlauf der Neurulation bleibt die Einschichtigkeit des Neuralrohrs erhalten, die Kerne ordnen sich aber in mehreren Reihen an, wobei zwischen Gehirn- und Rückenmarksanlage zunächst keine wesentlichen Unterschiede auffallen. Im allgemeinen finden sich 2 bis 3 Reihen länglicher gut angefärbter und dicht strukturierter Kerne, die parallel zur Längsachse der Zellen ausgerichtet sind.

Auf Grund unserer numerischer Auswertungen wissen wir bereits, dass Mitosen während der Neurulation relativ selten sind. Ein Anstieg ihrer Zahl ist erstmals im vordern Drittel des eben geschlossenen Medullarrohrs zu finden (vgl. Tabelle 2 und Kurve 2). Während der Neurulation liegen die Teilungsfiguren dicht unter der dorsalen Keimoberfläche, auf Schnitten durch das eben geschlossene Medullarrohr unmittelbar angrenzend an das Ventrikellumen. Die sich zur Teilung anschickenden Zellen runden sich ab, verlagern die Hauptmasse ihres Cytoplasmas an die ventrikuläre Oberfläche und stehen mit der Aussenfläche nur noch durch

eine ganz schmalk fadenförmige Plasmabrücke in Verbindung (vgl. Abb. 2). Nach durchgeführter Teilung nehmen die Tochterzellen wieder die prismatische Form der Ursprungszellen an. Die Häufung der Mitosen um das Ventrikellumen beruht ausschliesslich auf der Lageveränderung, die die zur Teilung sich anschickenden Zellen durchmachen. Der Begriff einer Matrixzone, die durch die ventrikuläre Lage der Mitosen gekennzeichnet ist, darf in den jüngeren Entwicklungsstadien des Neuralrohrs nicht mit der Vorstellung einer besonderen Zellschicht verbunden werden. Er entspricht vielmehr der allgemein gültigen Tatsache, dass sich in einschichtigen prismatischen Epithelverbänden die Zellen mit der Einleitung der Mitose abrunden und nach einer, meist der basalen Fläche des Epithels zurückziehen. Während der Neurulation und in den ersten Stadien des geschlossenen Neuralrohrs (vgl. Abb. 1 und 2) entspricht die Wandung im Bau einem mehrreihigen prismatischen Epithel, dessen Zellen wohl sämtlich die Fähigkeit zur mitotischen Vermehrung besitzen.

Bei Verwendung der MPF erscheint die Medullaranlage intensiver rot gefärbt als die Epidermis. Einen ungefähr gleich starken Farbton besitzt das Chordamesoderm, am blassesten erscheint das Entoderm. Benützen wir den Grad der Rotfärbung als grobes Mass für den RNS-Gehalt eines Keimabschnittes, dann ergibt sich schon bei Untersuchungen mit schwachen Vergrösserungen, dass die Medullaranlage derjenige Anteil einer normalen Neurula ist, der am meisten RNS enthält.

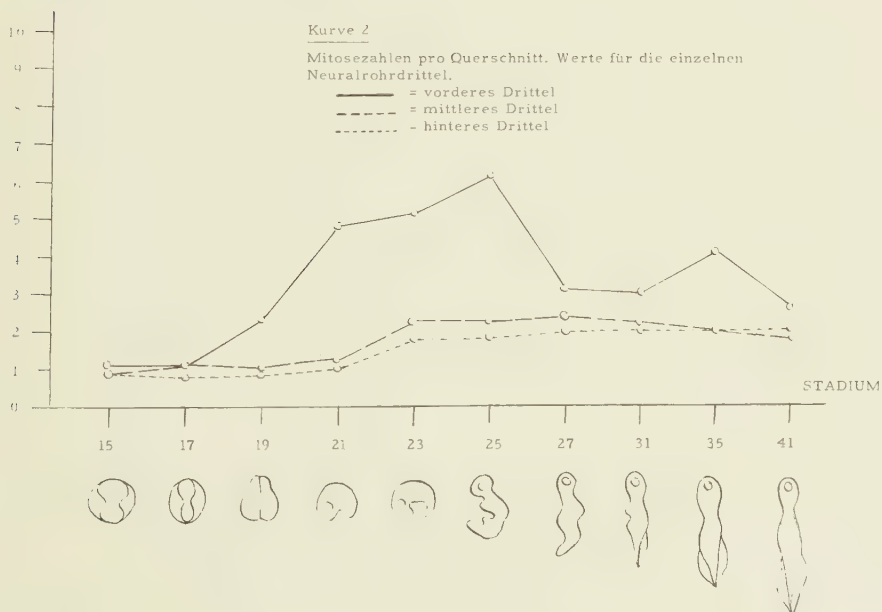
Untersuchungen unter Verwendung der Oelimmersion haben ergeben, dass alle Zellen der Medullarplatte und Rinne ungefähr gleich viel RNS enthalten. Im Cytoplasma der prismatischen Zellen ist ein ziemlich grobmäschiges Netz erkennbar, dessen Fäden aus dicht aneinander aufgereihten, mit Pyronin leuchtend rot gefärbten Körnchen, den pyroninaffinen Granula, besteht. Dieses Netz spannt sich zur Hauptsache unter der Zelloberfläche aus, es umspinnt aber auch den Kern. An den beiden Zellpolen verdichten sich seine Maschen so dass ein ganz bestimmtes Verteilungsmuster der RNS entsteht: an der innern und äussern Oberfläche der einschichtig-mehrreihigen Medullaranlage ist die Rotfärbung intensiver als in den mittleren Partien, wo sich die Hauptmasse der Kerne befindet. Die pyroninaffinen Granula sind rundlich und haben einen Durchmesser von 1 bis 2 μ , liegen also ungefähr an der Grenze des Auflösungsvermögens. In den meisten Zellkernen finden wir einen oder mehrere Nukleolen, die sich ebenfalls intensiv mit Pyronin anfärben, also auch RNS enthalten. Sie erscheinen als homogene rote Kugeln.

Anordnung und Verteilung der RNS erfahren in sich zur Teilung anschickenden Zellen eine Veränderung. Das durch die pyroninaffinen Granula in der ruhenden Zelle gebildete Oberflächennetz ist in der in Teilung begriffenen Zelle nicht mehr nachweisbar. Im Cytoplasma liegen zwar noch einige unregelmässig ver-

MITOSEZAHL/QUERSCHNITT



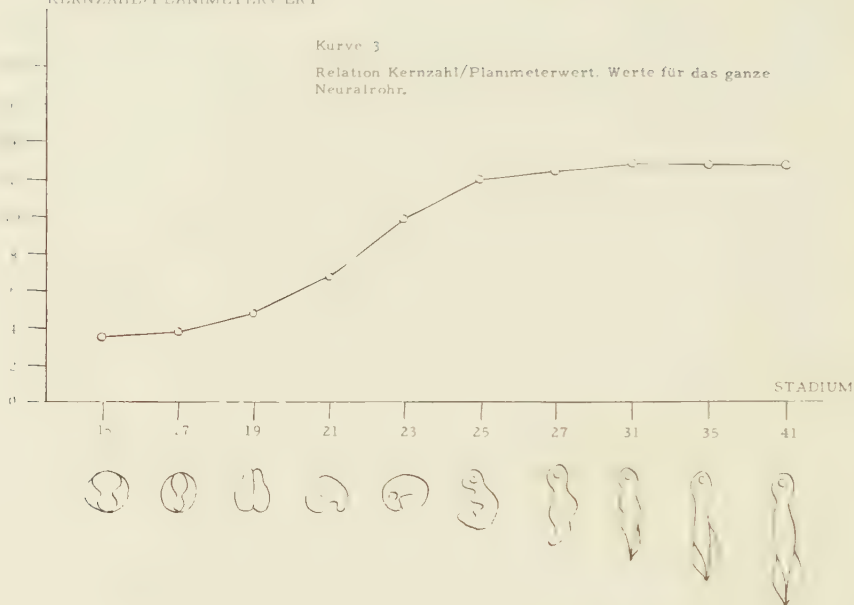
MITOSEZAHL/QUERSCHNITT



KERNZAHL/PLANIMETERWERT

Kurve 3

Relation Kernzahl/Planimeterwert. Werte für das ganze Neuralrohr.

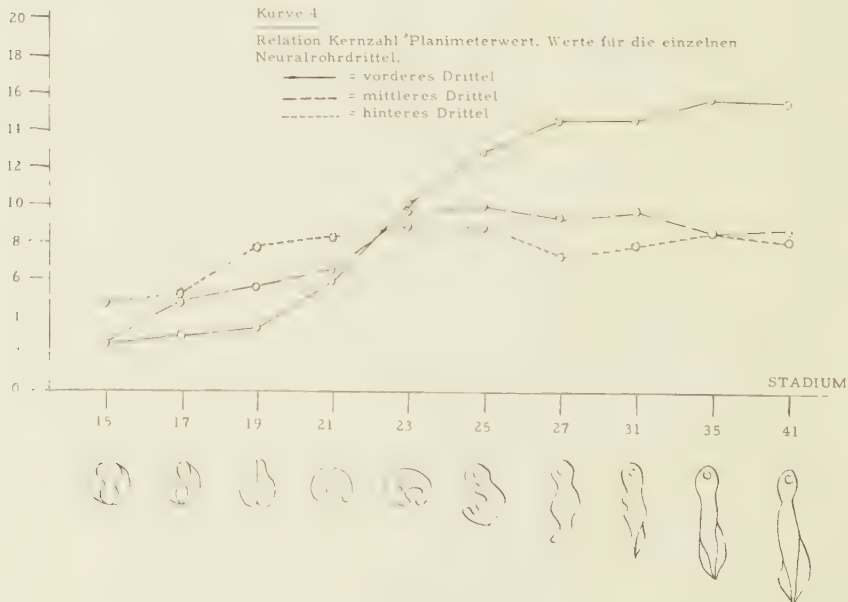


KERNZAHL/PLANIMETERWERT

Kurve 4

Relation Kernzahl/Planimeterwert. Werte für die einzelnen Neuralrohrdrittel.

— = vorderes Drittel
 - - - = mittleres Drittel
 . . . = hinteres Drittel



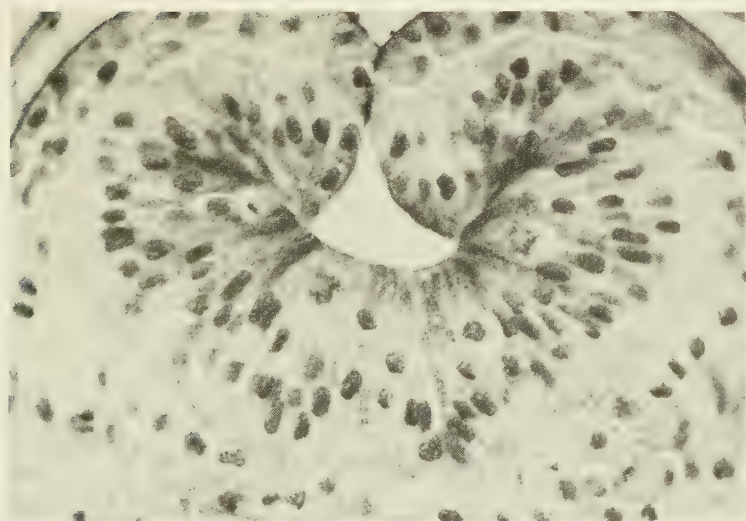
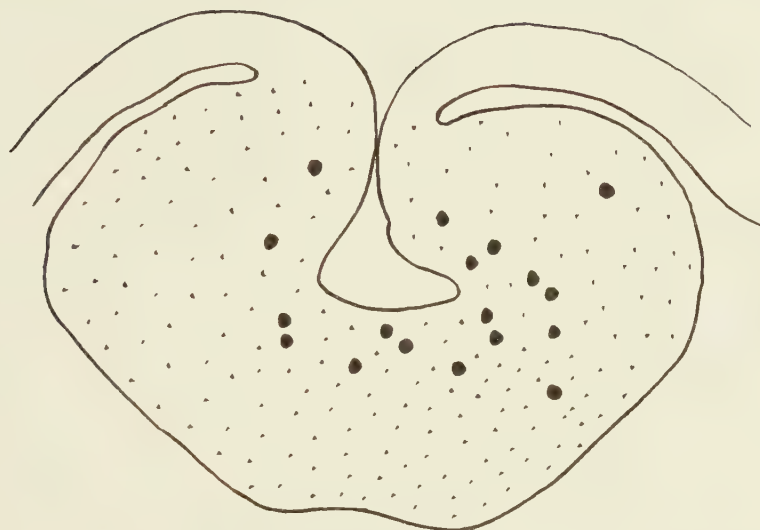


Abbildung 1a und b:

Querschnitt durch Keim 12 a (Stadium 18-19) auf Höhe des mittleren Neuralrohrdrittels.

Im Schema: fein punktiert = Ribonukleinsäure. Grobe Punkte = Mitosen. (Dasselbe gilt in allen folgenden Schematas).

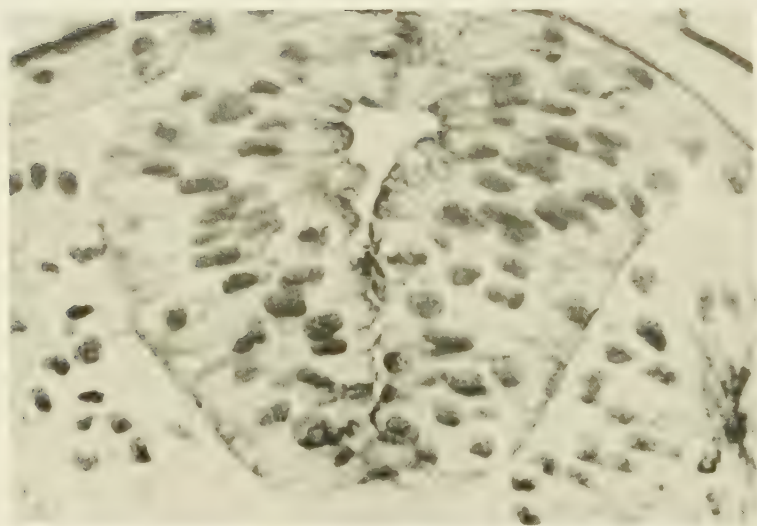
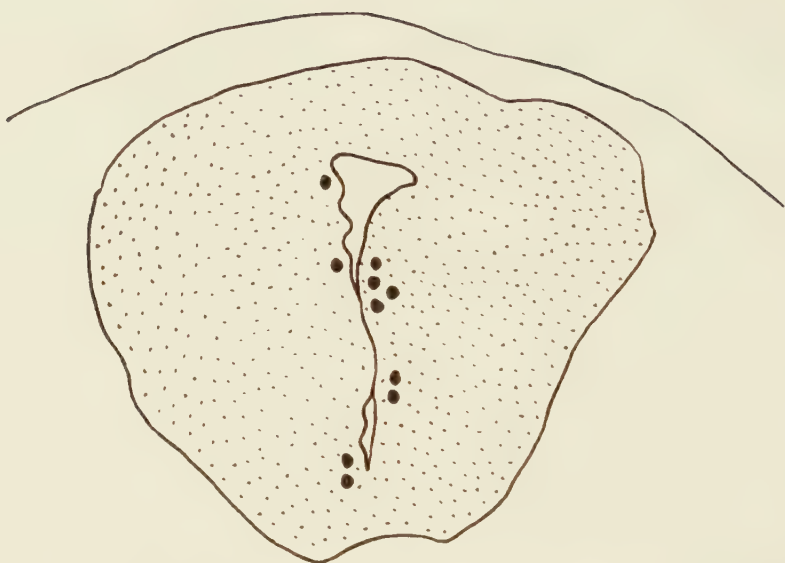


Abbildung 2a und b:

Querschnitt durch Keim 34 b (Stadium 20-21) auf Höhe des mittleren Neuralrohr-
drittels.

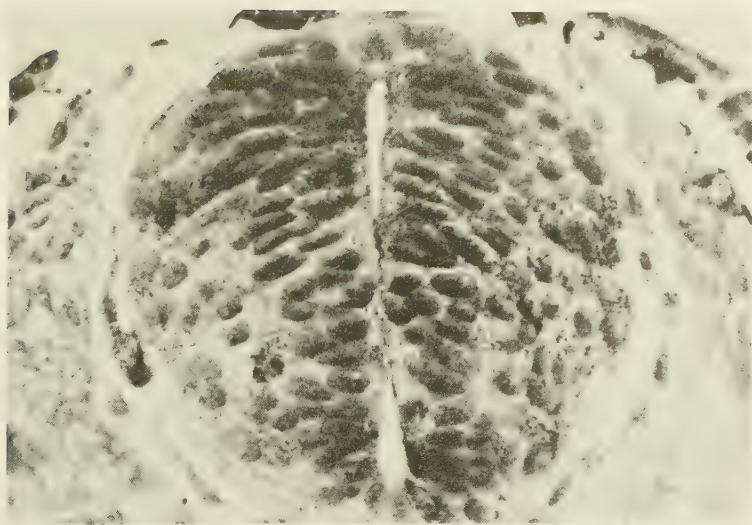
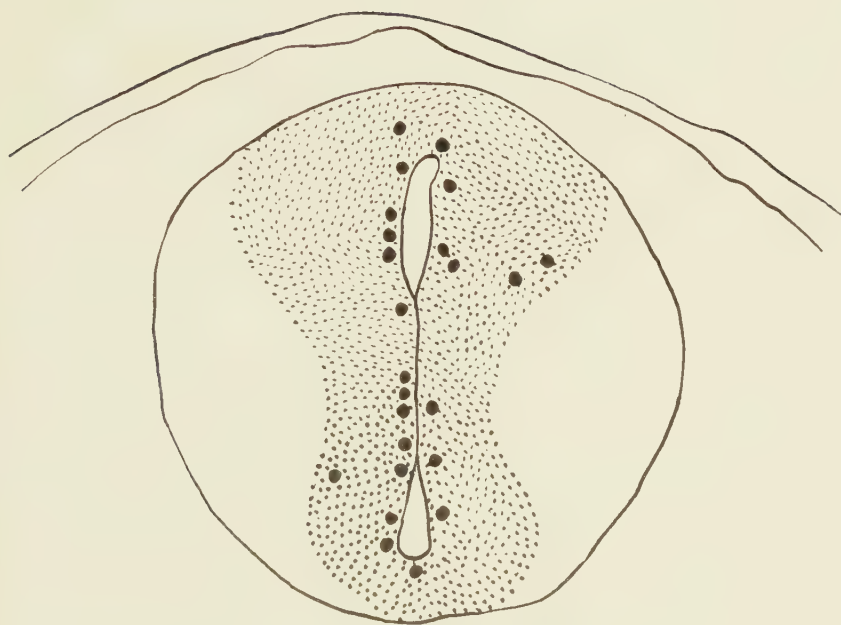


Abbildung 3a und **b**:

Querschnitt durch Keim 81 (Stadium 28-29) auf Höhe des mittleren Neuralrohr-
drittels.

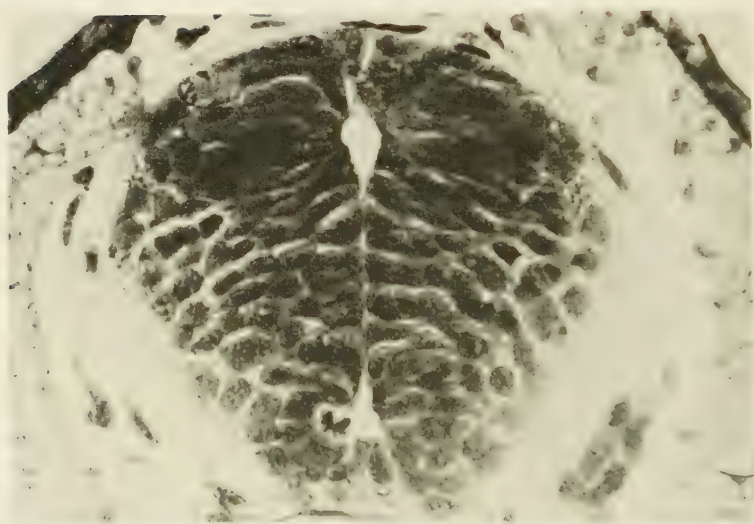
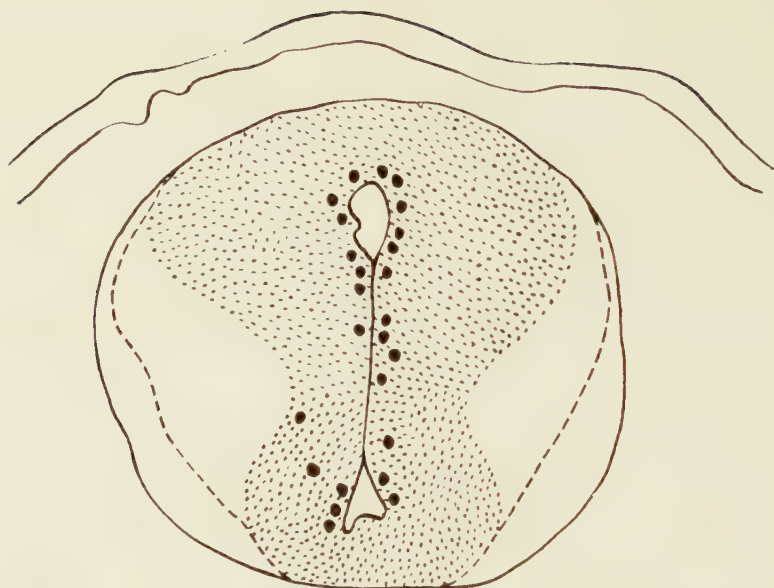


Abbildung 4a und b:

Querschnitt durch Keim 67 a (Stadium 36) auf Höhe des mittleren Neuralrohrdrittels.

Im Schema: die unterbrochene Linie bezeichnet die Grenze zwischen zelligem Neuralrohrquerschnitt und Randschleier.

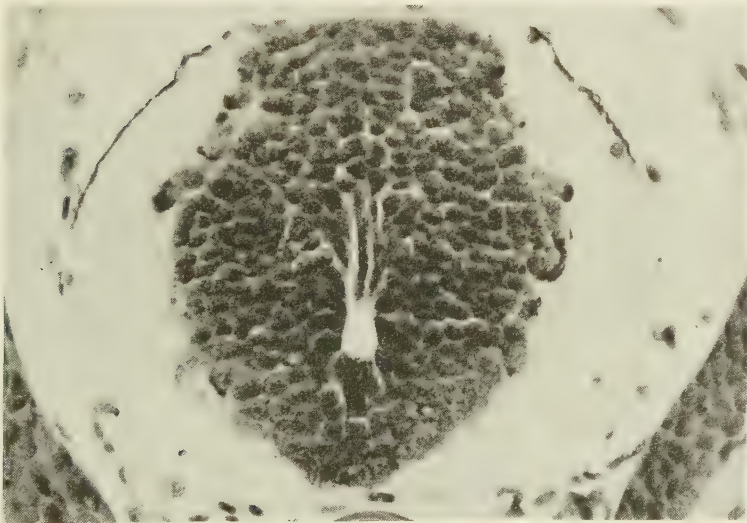
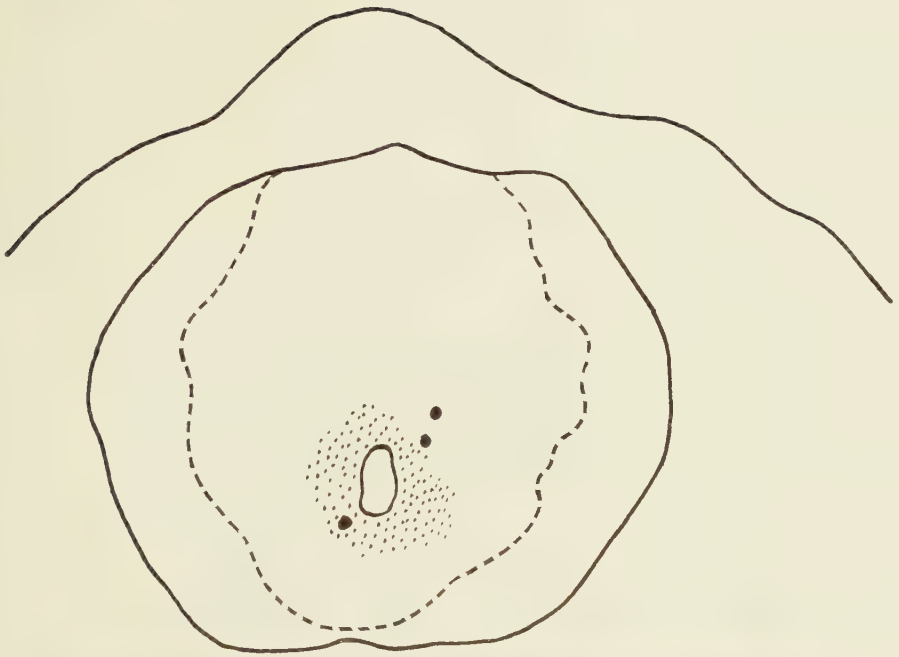


Abbildung 5a und b:

Querschnitt durch Keim 75 I (Stadium 41-42) auf Höhe des mittleren Neuralrohrdrittels.

Im Schema: die unterbrochene Linie bezeichnet die Grenze zwischen zelligem Neuralrohrquerschnitt und Randschleier.

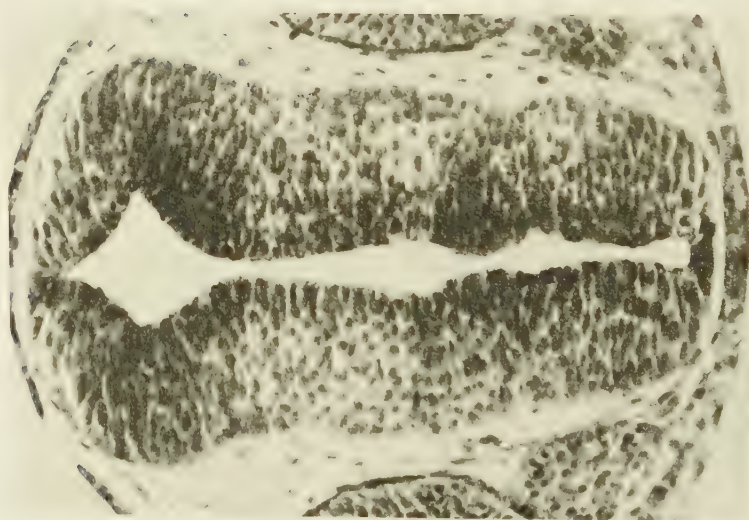


Abbildung 6a und b:
Querschnitt durch Keim 8 I auf Höhe des Zwischenhirns.

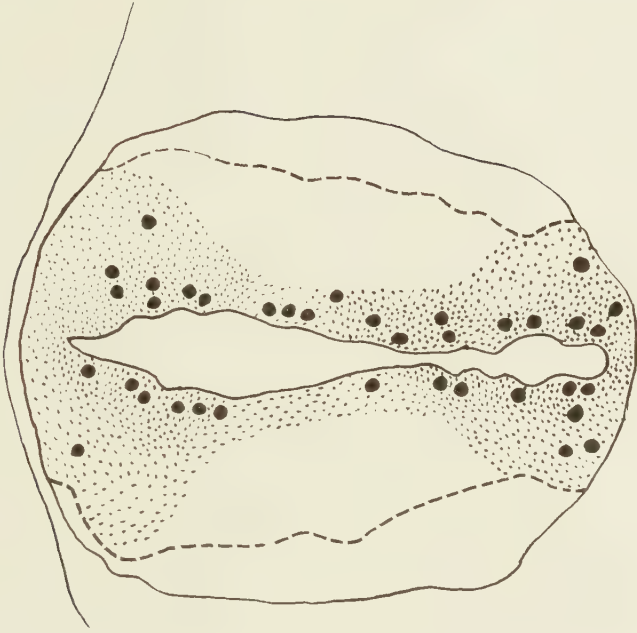
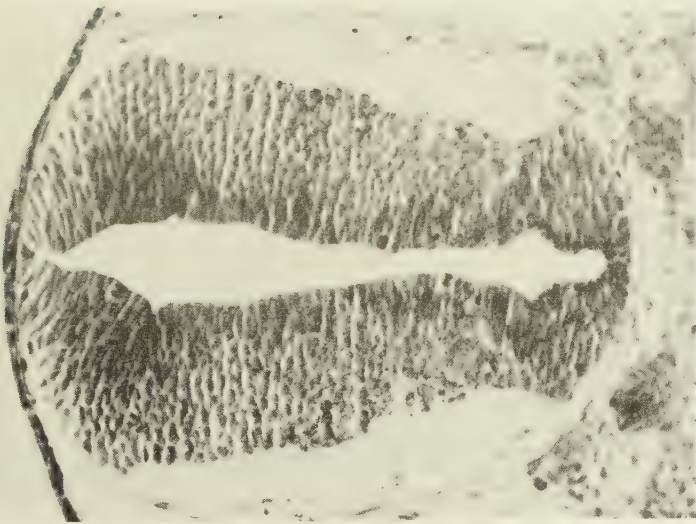


Abbildung 7 a und b:

Querschnitt durch Keim 18 (Stadium 34-35) auf Höhe des Recessus opticus (unmittelbar vor dem Chiasma opticum).

Im Schema: die unterbrochene Linie bezeichnet die Grenze zwischen zelligem Neuralrohrquerschnitt und Randschleier.

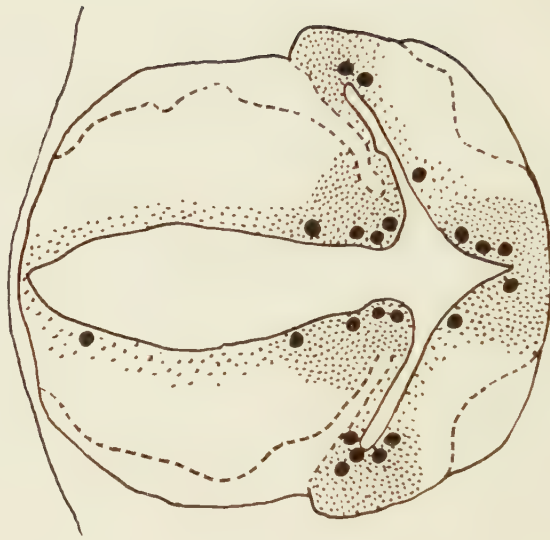
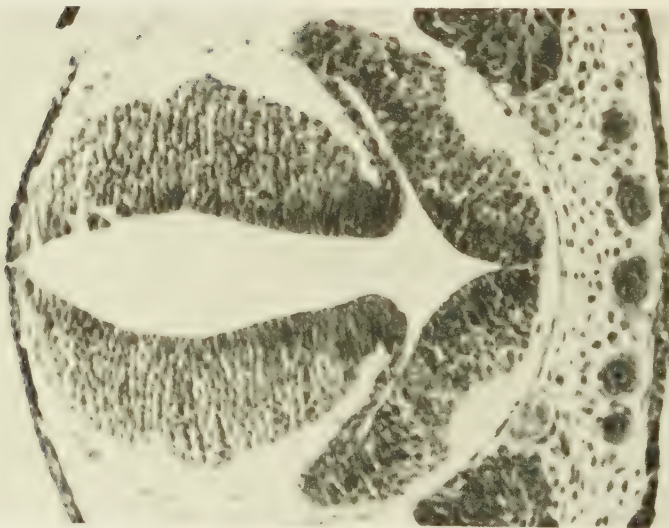


Abbildung 8 a und b:

Querschnitt durch Keim 70 B (Stadium 40-41) auf Höhe des Ueberganges Diencephalon-Telencephalon.

Im Schema: Die unterbrochene Linie bezeichnet die Grenze zwischen zelligem Neuralrohrquerschnitt und Randschleier.

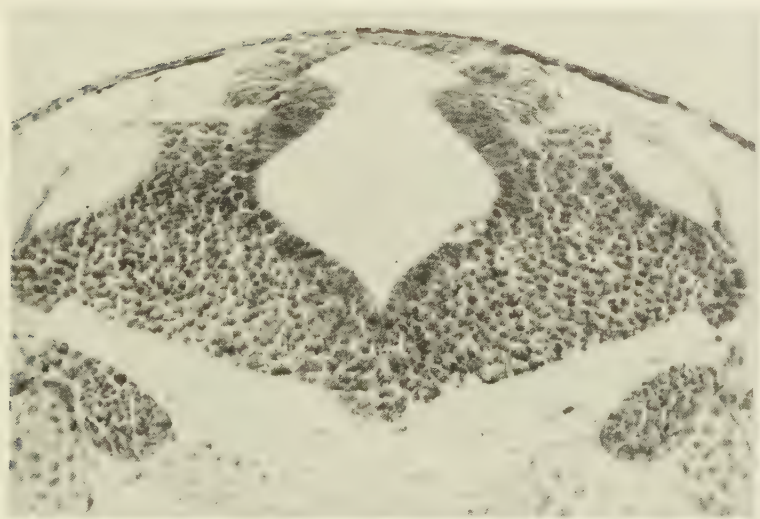
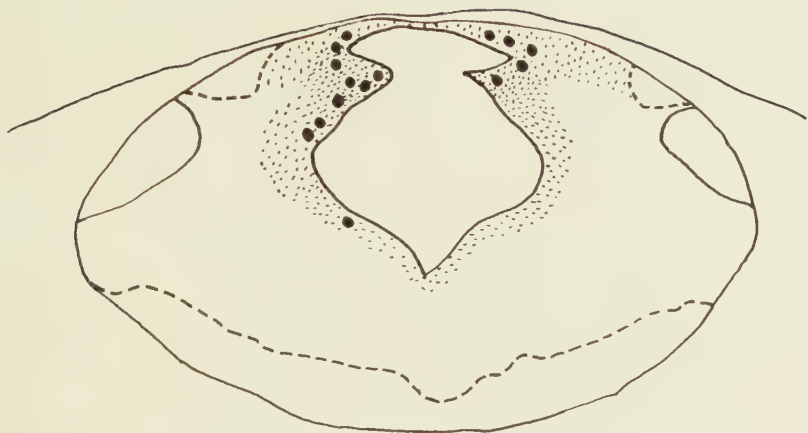


Abbildung 9a und b:

Querschnitt durch Keim 70 B auf Höhe des caudalen Mittelhirnendes.

Im Schema; die unterbrochene Linie bezeichnet die Grenze zwischen zelligem Neuralrohrquerschnitt und Randschleier.



Abbildung 10:

Querschnitt durch die Zwischenhirnregion eines Keimes Stadium 38.

Nach 24-stündiger Behandlung des Schnittes mit Stilboestrol 1 : 100 000 sind gestoppte Mitosen in der ganzen Ausdehnung der Proliferationszone erkennbar.

teilte, mit RNS beladene Granula. Sie sind grösser und weniger zahlreich als die das Netz der Arbeitszelle bildenden Körner. Die Hauptmasse der RNS ist an die Spindelfasern angelagert, die dadurch leuchtend rot gefärbt erscheinen.

Vereinzelte werden Arbeitszellen angetroffen, die sich in Bezug auf die RNS-Verteilung anders verhalten als die grosse Mehrzahl der übrigen Zellen. Vom beschriebenen Oberflächennetz ist nichts mehr zu sehen. Dafür sind fast alle Granula an einem Ende der Zelle zusammengedrängt und verklumpt. Die Rotfärbung ist weniger intensiv als unter normalen Umständen. Mazerierte Keime zeigen diese Erscheinungen regelmässig, es handelt sich demnach um Zellen, deren Vitalität herabgesetzt ist.

Anordnung und Verteilung der RNS ändern sich im Verlauf der Weiterentwicklung des Neuralrohres in einer Weise, die eine gesonderte Besprechung von Gehirn und Rückenmark erfordert.

B. Weiterentwicklung im Rückenmark

Bis zur Beendigung der Neurulation zeigt das Medullarrohr den beschriebenen einschichtig-mehrreihigen Aufbau. Dann wird es, im Hirnrohr beginnend und nach caudal fortschreitend, mehrschichtig. In einem Stadium, in dem die deutlich prominierenden Augenblasen gestielt sind und die erste Andeutung einer Becherbildung erkennen lassen, (ca. Stadium 23), ist praktisch das ganze Rückenmark mehrschichtig geworden. In der Folge sollen die Verhältnisse an Hand dreier Keime verschiedenen Entwicklungsalters näher besprochen werden.

1. Keim 8 I (vgl. Abb. 3)

Dieser Keim ist äusserlich längsgestreckt, lässt einen dorsalen Flossensaum eben erkennen und entspricht dem Stadium 28 bis 29. In unsern Mitosekurven liegt er an einer Stelle, die bereits für die beiden hintern Neuralrohrdrittel abfallende Werte zeigt, wo also Proliferation und Wachstum nicht mehr so intensiv vor sich gehen wie in früheren Stadien (vgl. Kurve 2). Auf den Querschnitten durch das Neuralrohr lassen sich, in den cranialen Abschnitten stärker ausgeprägt als in den weiter caudalen, zwei gesonderte Bezirke abgrenzen:

a) Um den Zentralkanal herum gruppieren sich radiär ausgerichtete prismatische Zellen, deren längsovale Kerne in mehreren Reihen angeordnet sind. In ihren dorsalen und ventralen Anteilen erscheint diese Zellage breit und reicht, namentlich dorsal, bis an die äussere Oberfläche des Neuralrohres. In den intermediären

Partien, in der sogenannten Seitenplatte, wird sie schmaler, so dass auf dem Querschnittsbild der Eindruck einer Schuhsohlen- oder Hantelform hervorgerufen wird. Mitosen sind in reichlicher Zahl über dieses ganze Gebiet verstreut, zur Mehrzahl liegen sie aber in der Umgebung des spaltförmigen Zentralkanals, allerdings nur selten direkt an ihn angrenzend (vgl. Abb. 3).

Alle diese prismatischen Zellen mit ihren längsovalen Kernen enthalten reichlich RNS in Form recht engmaschiger Oberflächennetze, deren Fäden aus dicht aneinander aufgereihten pyroninaffinen Granula bestehen und gelegentlich doppelt sind. In den Mitosen sind die Spindelfasern leuchtend rot angefärbt. Damit hebt sich die ganze aus diesen Zellen aufgebaute hantelförmige Zone durch ihre intensive Rotfärbung von den übrigen Anteilen des Neuralrohrquerschnittes deutlich ab (vgl. Abb. 3).

Die Aenderung der Verhältnisse gegenüber dem eben geschlossenen Neuralrohr ist augenfällig: während dort noch alle Zellen des Neuralrohrquerschnittes in gleicher Weise spärlich mit RNS beladen sind, ist diese jetzt auf eine um das Zentralkanallumen herum angeordnete schuhsohlenförmige Zone beschränkt, wobei die Einzelzellen viel mehr pyroninaffine Strukturen enthalten. Wenig geändert hat sich die Lage der Mitosen, die nach wie vor zur Hauptsache um das Lumen des Zentralkanals herum gruppiert sind. Diesen, die Hauptmasse der Teilungsfiguren enthaltenden Bezirk möchten wir in der Folge als die eigentliche Matrixzone bezeichnen, während die ganze rotgefärbte schuhsohlenförmige Zone die Proliferationszone darstellt.

b) Aussen an die Proliferationszone schliesst sich ein Bezirk an, der im Gegensatz zu dieser in den intermediären seitlichen Partien am breitesten ist, während er sich gegen dorsal und ventral zu einem schmalen Saum verjüngt und schliesslich dort, wo die Kerne der Proliferationszone an die äussere Umgrenzung des Neuralrohrs stossen, ganz verschwindet. In dieser Zone, die wir als Differenzierungszone bezeichnen, liegen in mehreren Schichten die rundlichen und dicht gelagerten Kerne der Neuro- und Spongioblasten. Die Zellen sind deutlich kleiner als diejenigen der Proliferationszone. Mitosen finden sich nicht. In der Peripherie der Differenzierungszone liegen vereinzelte, auffallend grosse ovale Zellen mit grossen runden bläschenförmigen Kernen, die sich deutlich gegen die Masse der übrigen Zellen abheben. Sie liegen an charakteristischer Stelle bilateral symmetrisch entweder an der äusseren Begrenzung der Grundplatte oder im Bereich der Deckplatte beidseits nahe der Mittellinie, meist in Gruppen von 2 bis 3 Zellen, gelegentlich auch solitär. In craniocaudaler Richtung lassen sie kein bestimmtes Verteilungsmuster erkennen, können aber von cranial nach caudal wiederholt nachgewiesen werden.

Die Neuro- und Spongoblasten sind arm an RNS. Damit unterscheidet sich die Differenzierungszone, abgesehen von der differentiellen Kern- und Zellform, hauptsächlich durch ihre schwächere Rotfärbung von der Proliferationszone. Nur die erwähnten auffallend grossen Ganglienzellen mit bläschenförmigem Kern zeigen im Cytoplasma eine Anreicherung von RNS. Sie tritt hier jedoch nicht in Form eines Oberflächennetzes pyronaffiner Granula in Erscheinung, sondern als Schollen und Bröckel polymorpher Gestalt. Es handelt sich um die mit Pyronin angefärbte und reichlich RNS enthaltende N-SSL-Substanz. Diese Zellen sind voll ausdifferenzierte Ganglienzellen: ihre Kerne sind chromatinarm und lassen mindestens einen, meist aber multiple reichlich RNS enthaltende Nukleolen erkennen.

Unter der Masse der übrigen Zellen der Differenzierungszone ist es in den vorliegenden Stadien nicht möglich, zwischen Neuroblasten und Spongoblasten eine Unterscheidung zu treffen.

2. Keim 6/ a (vgl. Abb. 4)

Dieser Keim zeichnet sich äusserlich durch seinen nun dorsal und ventral gut ausgebildeten Flossensaum aus und entspricht dem Stadium 36. Nach aussen von der Differenzierungszone hat sich der zu- und abführende Nervenfasern enthaltende Randschleier ausgebildet, der ausser im Bereich von Deck- und Bodenplatte an der ganzen Circumferenz des Neuralrohrs nachweisbar ist. In cranialen Querschnitten ist er stärker ausgebildet als in den caudalen.

Die Proliferationszone zeigt noch die typische Hantelform, wobei der im Bereich der Flügelplatte liegende Anteil viel mächtiger ausgebildet ist als der in der Grundplatte liegende. Die Kernform hat sich nicht geändert. Der Zentralkanal ist nun in seinen intermediären Partien verklebt und lässt nur noch ventral und dorsal je eine kleine rundliche Oeffnung erkennen. Gegenüber dem besprochenen Keim 8 i hat sich die Zahl der Mitosen – was auch deutlich aus Kurve 2 hervorgeht – nicht wesentlich geändert, hingegen zeigt sich eine ausgesprochene Verlagerungstendenz der Teilungsfiguren in die ventral und dorsal verbreiterten Anteile der Proliferationszone, hpts. in den mächtig entwickelten dorsalen Anteil.

Die RNS-Verteilung weist keine Änderungen auf: die Proliferationszone ist leuchtend rot gefärbt, während die Zellen der Differenzierungszone blass sind. Der Randschleier färbt sich bei der MPF kaum an, enthält also keine RNS-haltigen Strukturen.

3. Keim 75 I (vgl. Abb. 5)

Dieser Keim entspricht dem Stadium 41 bis 42 und sein Neuralrohr stellt das Endstadium des larvalen Rückenmarkes dar. Die Proliferationszone ist nur noch als schmaler radiärer Bezirk um den kleinen rundlichen gegen ventral liegenden Zentralkanal nachweisbar. Mitosen sind spärlich (vgl. Kurven 1 und 2), sie liegen im Bereich der Matrixzone ohne direkte Beziehung zum Zentralkanal. Mächtig entwickelt ist die Differenzierungszone, wobei die gewaltige Zunahme der ausdifferenzierten Zellen dorsal des Zentralkanals sich aus der starken Ausprägung des bei Keim 67 a gesehenen dorsalen Proliferationszonenbezirktes erklärt (vgl. Abb. 4). Der sich nach aussen anschliessende breite Randschleier ist nach wie vor nur in den seitlichen Partien zu erkennen. Das Verhalten der einzelnen Zellen und Gehalt und Verteilung der RNS haben sich innerhalb der verschiedenen Zonen nicht geändert.

C. Weiterentwicklung im Hirnrohr

Während im Rückenmark die beschriebenen Proliferations- und Differenzierungsvorgänge, einem craniocaudalen Gefälle folgend, in der Längsausdehnung gleichartig ablaufen, bildet der Hirnabschnitt des Neuralrohrs schon frühzeitig einige Besonderheiten. Die mannigfaltigen Wachstums- und Formbildungsvorgänge, die den rostralen Abschnitt des Medullarrohrs zu dem komplex gebauten larvalen Gehirn der Amphibien ausbauen, modifizieren die Grundzüge der im Rückenmark zu Tage getretenen Entwicklungsvorgänge in zeitlicher und örtlicher Beziehung. Es sei in diesem Zusammenhang auf das Auswachsen der Augenblasen im Zwischenhirn (RICKENBACHER), die Entwicklung der Hemisphaeren im Prosencephalon, die Umbildungsvorgänge im Boden des Zwischenhirns mit der Ausstülpung des Recessus opticus und des Infundibulum hingewiesen. Alle diese Vorgänge setzen in der von uns untersuchten Entwicklungsperiode zu ganz verschiedenen Zeitpunkten ein und sind auch in den ältesten zur Untersuchung gelangten Stadien noch nicht völlig zum Abschluss gekommen. Da eine ausführliche Beschreibung all dieser Teilvorgänge den Rahmen dieser Arbeit überschreiten würde, sollen im folgenden an ausgewählten Beispielen die wesentlichen Gesichtspunkte abgeleitet werden.

1. Keim 8 I (vgl. Abb. 6)

Dieser bereits anlässlich der Besprechung der Rückenmarksquerschnitte beschriebene Keim entspricht dem Stadium 28 bis 29. Unser Querschnitt geht durch die Gegend des Zwischenhirns. Deutlich erkennbar und grundsätzlich gleich konfiguriert wie im Rückenmark ist die hantelförmige Proliferationszone, die am ventralen und dorsalen Ende des schmalen spaltförmigen Zentralkanals mächtig aufgetrieben ist, während sie in den seitlichen Partien gelegentlich nur eine Kernreihe besitzt. Ihre Kerne sind länglich und radiär gegen aussen angeordnet, sie heben sich deutlich gegen die runden kleineren und dichter gelagerten Kerne der Differenzierungszone ab. Im Gebiet der dorsalen und ventralen Anschwellung der Proliferationszone erreichen sie die äussere Oberfläche des Diencephalon. Mitosen finden sich reichlich (vgl. Tabelle 2 und Kurve 2) mit deutlichem Schwerpunkt in der dorsalen und ventralen Anschwellung. In den intermediären Teilen sind sie zwar auch vorhanden, aber weniger zahlreich. Die meisten Teilungsfiguren liegen in der Umgebung des Zentralkanals (Matrixzone). Sowohl von den seitlichen Teilen als auch von der dorsalen und ventralen Anschwellung der Proliferationszone aus findet ein Zellnachschub in die Differenzierungszone statt, deren Kernzahl rasch zunimmt. Auch hier haben wir innerhalb der Differenzierungszone keine Unterscheidung treffen können zwischen Neuroblasten und Spongioblasten.

Die Verteilung der RNS entspricht im Prinzip der bereits im Rückenmarksbereich beschriebenen; RNS-reich ist nur die Proliferationszone, während die Differenzierungszone praktisch frei davon ist. Innerhalb der Proliferationszone ergeben sich drei Schwerpunkte der RNS-Verteilung: je einer im Bereich der ventralen und dorsalen Anschwellung sowie einer beim Uebergang des mittleren ins ventrale Drittel des Neuralrohrquerschnittes beidseits vom Zentralkanal. In den übrigen (seitlichen) Partien der Proliferationszone ist weniger RNS nachweisbar.

Die ventrale Anschwellung der Proliferationszone erweist sich als wichtig für die Ausgestaltung des Hypothalamus, Recessus opticus und Infundibulum, die dorsale für das spätere Auswachsen des Recessus posterior mesencephali, der das Rhombencephalon dorsal überlagert. Der dritte Schwerpunkt schliesslich steht im Zusammenhang mit der Bildung der Hemisphaeren.

2. Keim 18 (vgl. Abb. 7)

Dieser Keim entspricht dem Stadium 34 bis 35. Unser Querschnitt geht etwas vor dem Chiasma opticum durch die Gegend des Recessus opticus. Gegenüber dem Keim 8 I zeigt sich jetzt ein deutlicher breiter Randschleier in den seitlichen Neu-

ralrohranteilen. Proliferations- und Differenzierungszone zeigen keine wesentlichen Änderungen: auch hier erreichen die Kerne der Proliferationszone im Bereiche der dorsalen und ventralen Anschwellung die Hirnrührperipherie. Mitosen sind etwas weniger zahlreich als im vorher besprochenen Stadium 28 bis 29 zu erkennen, sie liegen etwas diffuser über die Fläche der Proliferationszone verstreut, aber ihre Mehrzahl lässt eine topographische Beziehung zum Zentralkanal erkennen. Nach wie vor sind sie im Bereich der ventralen und dorsalen Auftreibung gehäuft.

Die RNS weist die gewohnte Verteilung auf: färberisch ist sie nur im Bereich der Proliferationszone nachweisbar, während Differenzierungszone und Randschleier keine Rotfärbung zeigen. Auffallend viel RNS ist um das ventrale Ende der Zentralkanallichtung herum angeordnet, es handelt sich dabei um den erwähnten Recessus opticus, der sich aus dem Boden des Zwischenhirns gegen ventral ausstülpt. Entsprechend der regen Proliferations- und Wachstumstätigkeit in dieser Gegend findet sich ein Schwerpunkt der Mitosen und eine besonders dichte und reichliche Anhäufung pyroninaffiner Strukturen.

3. Keim 70 B (vgl. Abb. 8 und 9)

Dieser Keim entspricht dem Stadium 40 bis 41 und gehört zu den ältesten von uns untersuchten Entwicklungsstadien. Auf einem Querschnitt durch das Hirnrühr auf Höhe des Ueberganges vom Diencephalon ins Telencephalon erkennt man im ventralen Drittel das Auswachsen der beiden Grosshirnhemisphaeren (vgl. Abb. 8). Die dorsal spärlich entwickelte, nur eine oder wenige Zellagen umfassende Proliferationszone ist in der ventralen Hälfte des Hirnrührquerschnittes mächtig ausgebildet und weist einige Besonderheiten auf. Dorsal von der Ausstülpungsstelle der beiden Seitenventrikel aus dem Lumen des Zentralkanals findet sich beidseits der bereits erwähnte dritte Schwerpunkt der RNS-Verteilung. Er imponiert als verbreiterte Zone mit intensiver Rotfärbung in der MPF. Weitere deutliche Massierungen pyroninaffiner Substanzen treten im Scheitel der beiden Hemisphaerenausstülpungen sowie um das ventrale Ende der Lichtung des Zentralkanals auf. An allen diesen Massierungsstellen der RNS nimmt die Proliferationszone die ganze Breite des zelligen Neuralrohrquerschnittes ein. Die bisher immer angetroffene dorsale Anschwellung der Proliferationszone ist nicht mehr ausgebildet. Mitosen finden sich reichlich, sie sind aber beschränkt auf die Stellen erhöhter RNS-Ansammlung und besitzen topographische Beziehung zum Lumen des Zentralkanals. Die in ihrer Form durch das Auswachsen der Grosshirnhemisphaeren in der ventral gelegenen Hirnrührhälfte etwas modifizierte Differenzierungszone und der in den seitlichen Partien nachweisbare Randschleier weisen keine weiteren Besonderheiten auf.

ten auf. Beide sind praktisch frei von pyroninaffinen Strukturen.

Zellnachschieb und Wachstum bei der Bildung der Grosshirnhemisphaeren gehen also an der Basis der Ausstülpungsstelle sowie im Scheitel der Hemisphaerenanlagen vor sich. Die Proliferationszone ist an diesen Stellen mächtig ausgebildet, hier finden sich die Mitosen und der Reichtum an RNS ist gross. In den dorsalen Bezirken finden keine Proliferations- und Wachstumsvorgänge mehr statt, dementsprechend ist die Proliferationszone klein, Mitosen fehlen praktisch und die pyroninaffinen Strukturen sind locker angeordnet und spärlich. Das Auswachsen der Hemisphaeren ist ein sehr instruktives Beispiel dafür, wie Mächtigkeit der Proliferationszone, Anhäufung von Mitosen und Reichtum an RNS an Stellen intensiver Proliferation und starken Wachstums gebunden sind.

Ähnliches kann im Boden des Zwischenhirns für die Ausgestaltung von Hypothalamus und Infundibulum gesehen werden. Im Zusammenhang mit der Bildung dieser Strukturen steht die starke Ausprägung der ventralen Anschwellung der Proliferationszone mit ihrem Reichtum an Mitosen und RNS. Aber auch weiter caudal gehen Wachstums- und Formbildungsvorgänge weiter zu einer Zeit, in der im übrigen Neuralrohr die Mitosetätigkeit weitgehend erloschen ist. Im gleichen Keim 70 B erkennen wir auf einem durch das caudale Ende des Mittelhirns durchgehenden Querschnitt den das Rhombencephalon dorsal überlagernden Recessus posterior mesencephali (vgl. Abb. 9). Das Hirnrohr ist hier ein quergestelltes Oval, der Zentralkanal eher rundlich. Er zeigt in seinem dorsalen Abschnitt die Ausstülpung des Recessus posterior, an dessen Basis von beiden Seiten her zwei zugespitzte Höcker ins Lumen hineinragen. Die im Vergleich zur mächtig entwickelten Differenzierungszone kleine Proliferationszone ist an der seitlichen und untern Begrenzung des Zentralkanals als schmales Band nachweisbar, im Bereich der beiden Höcker verdickt sie sich und gegen dorsal zu nimmt sie die ganze Breite des zelligen Neuralrohrquerschnittes ein. Eine ventrale Anschwellung fehlt. Mitosen finden sich in mässiger Menge nur im Bereich der Basis und der dorsalen Begrenzung des Recessus posterior. Am meisten RNS weisen die beiden Höcker auf, etwas weniger die dorsale Proliferationszone um den Recessus herum. Am wenigsten RNS findet sich in den seitlichen und ventralen Bezirken der Proliferationszone. - Proliferation und Wachstum des Recessus posterior mesencephali gehen also zur Hauptsache aus von seiner Basis, d.h. den beiden von links und rechts her ins Zentralkanallumen hinein prominierenden Höckern.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die numerische Auswertung der Kern- und Mitosezahlen erlaubte uns, die Proliferationsverhältnisse im Neuralrohr in zeitlicher Hinsicht festzulegen. Während der Neurulation nimmt die Kernzahl pro Flächeneinheit nur ganz unwesentlich zu, die Mitosen sind spärlich. Die Entwicklung von der Medullarplatte zum Medullarrohr geht also ohne wesentliche Zellvermehrung vor sich. Wir fassen die Neurulation als eine Gestaltungsbewegung auf, in der Faktoren wie Proliferation keine wesentliche Rolle spielen. Erst in dem Augenblick, in dem sich das Nervenrohr gebildet und von der Oberfläche abgelöst hat, beginnt eine intensive Zellvermehrung. Die Mitosezahlen und dementsprechend auch die Kernzahlen pro Flächeneinheit gehen in die Höhe und erreichen in den Stadien 25 und 27 einen Punkt, von dem aus dann die Zunahme viel weniger stürmisch erfolgt. Das heisst, dass die intensivste Zellvermehrung im Neuralrohr in einer Entwicklungsphase stattfindet, die unmittelbar nach Abschluss der Neurulation beginnt und in einem Zeitpunkt endigt, in dem der Embryo seine ersten Bewegungen ausführt. Zwar sistiert nachher innerhalb unserer Untersuchungsreihe die Proliferation keineswegs. Das geht schon daraus hervor, dass die Kernzahlen immer weiter ansteigen. Der Rückgang der Mitosezahl nach den Stadien 25 bis 27 beruht zum Teil auf einem effektiven Rückgang der Proliferation zum Teil aber auch darauf, dass wir mit unserer Auswertungsmethode weniger Teilungsfiguren erfassen, die jetzt infolge Streckung und Längenwachstums weiter auseinanderliegen. Der Rückgang der Mitosetätigkeit ist darüber hinaus sicher auch mitbedingt durch einen Hungereffekt, indem den Larven keinerlei Futter vorgesetzt wurde. Auf diesen Zusammenhang haben 1948 bereits BODENSTEIN und KONDRITZER aufmerksam gemacht.

Oertlich liegt der Schwerpunkt der Proliferation im cranialen Neuralrohrdistal wie aus den Kurven 2 und 4 sowie aus Tabelle 2 deutlich hervorgeht. In Bezug auf die Proliferation besteht ein craniocaudales Gefälle, auf das 1948 bereits HAMBURGER hingewiesen hat. Die von ihm beschriebenen segmentalen Schwerpunkte der Mitosen in craniocaudaler Richtung konnten wir in unserem Untersuchungsmaterial nicht feststellen.

Hauptaufgabe dieser Arbeit war es, den Ablauf der Proliferations- und Differenzierungsvorgänge im Neuralrohr und die Rolle, die die RNS dabei spielt, zu

untersuchen. Schon lange bekannt ist die ventrikuläre Lage der Mitosen, auf die besonders HAMBURGER 1948 aufmerksam machte. Durch unsere ganze Untersuchungsreihe hindurch gruppieren sich die Teilungsfiguren um das Lumen des Zentralkanalans herum und die ihn umgebende, die Hauptmasse der Mitosen enthaltende Zone ist die eigentliche Matrix des Nervenrohres. Von ihr geht der Zellnachschiebung gegen die Peripherie aus, wobei die Zellen auf dieser passiv erfolgenden Wanderung die Differenzierung zu Ganglienzellen durchmachen. Das Wachstum des Neuralrohrs beruht nicht auf einem Grösserwerden der einzelnen Zelle, sondern auf einer immer dichter werdenden Anschoppung von Zellen. Diese werden selber immer kleiner, indem nach erfolgter Teilung die Tochterzellen nicht zur ursprünglichen Grösse der Mutterzelle heranwachsen.

Wir haben bereits auf die Tatsache aufmerksam gemacht, dass nach Angabe verschiedener Autoren Zonen mit intensiver Proliferation reich an RNS sind. Alle Autoren erkannten übereinstimmend, dass die Zellen dann am meisten RNS enthalten, wenn ihre Eiweissynthese ein grösstes Ausmass erreicht, also bei Teilung und Wachstum. Ausdifferenzierte Zellen hingegen verlieren ihren RNS-Gehalt weitgehend. Durch die Anwendung der MPF waren wir in der Lage, die Gültigkeit dieser Aussagen auch für das zentrale Nervensystem von *Triton alpestris* zu prüfen und darüber hinaus weitere Einblicke in Wachstum und Differenzierung dieses Organs zu erhalten.

Die einfachsten Verhältnisse treffen wir im Rückenmark. Während der Neurulation liegt wenig RNS diffus auf alle Zellen der Neuralanlage verteilt. Das steht im Einklang mit der Tatsache, dass in dieser Phase die Zellvermehrung ganz im Hintergrund steht gegenüber Auffaltungsbewegungen. Die Medullaranlage stellt einen einschichtigen mehrreihigen Zellverband dar und die sich teilenden Zellen runden sich ab und wandern an die innere Oberfläche, stehen aber mit der äusseren durch eine schmale Plasmabrücke in Verbindung (vgl. Abb. 2). Mit dem Einsetzen intensiver Proliferationstätigkeit nach Beendigung der Neurulation wird das Medullarrohr, einem craniocaudalen Gefälle folgend, mehrschichtig und es kommt zur Ausbildung von Proliferations- und Differenzierungszone sowie schliesslich des Randschleiers. Die mit Pyronin intensiv rot gefärbte Proliferationszone weist im Rückenmark eine typische Hantelform mit dorsaler und ventraler Anschwellung auf, die beide besonders reich an RNS sind und in die sich die Hauptmasse der Mitosen konzentriert. Aus diesen beiden Schwerpunkten der Proliferation heraus findet der hauptsächliche Zellnachschiebung in die Differenzierungszone statt. Die Mitosen gruppieren sich praktisch alle um das Lumen des Zentralkanalans herum, können aber auf der ganzen Fläche der Proliferationszone liegen. Wir müssen auch hier annehmen, dass sich die sich teilenden Zellen an die innere Oberfläche verlagern, sie stehen mit der äusseren Oberfläche aber im nun mehr-

schichtigen Zellverband nicht mehr in Verbindung. Die ventrikuläre Lage der Mitosen hat zur Aufstellung des Begriffes der Matrixzone geführt. Dieser Mechanismus scheint indessen nur für normale Verhältnisse Gültigkeit zu besitzen. Bei Versuchen mit mitosehemmenden Substanzen an *Triton alpestris* (TÖNDURY CAGIANUT, SCHENK) ist schon früher aufgefallen, dass die gestoppten Mitosen nicht nur in unmittelbarer Nähe des Zentralkanals oder der dem Pigmentepithel zugewandten Schicht der Augenblase angehäuft sind, sondern bei schweren Störungen sich über die ganze Breite der Wandung ausdehnen können (vgl. Abb. 10). Solche Bilder wurden vor allem an den dorsalen und ventralen Umschlagstellen des Neuralrohrs gefunden, wo die Proliferationszone die ganze Wandbreite einnimmt. Mit der Anhäufung gestoppter Mitosen wird die Verlagerung der sich teilenden Zellen an die ventrikuläre Oberfläche durch Besetzung aller Plätze unterbunden und die Teilungsfiguren werden schliesslich auf die ganze Breite der Proliferationszone hinausgedrängt. Dadurch wird auch klar, dass die durch ihren RNS-Reichtum definierte Proliferationszone eine grössere Flächenausdehnung besitzt als die durch Lokalisation der Mitosen unter normalen Umständen erschlossene Matrixzone.

Im Hirnabschnitt treffen wir grundsätzlich die gleichen Verhältnisse wie im Rückenmark, nur werden dort Form, Lage und Ausdehnung von Proliferations- und Differenzierungszone durch die beschriebenen Ausstülpungs- und Ausgestaltungsvorgänge bei der Bildung des Recessus opticus, des Hypothalamus und des Infundibulum, der Hemisphaeren und des Recessus posterior mesencephali mannigfach abgewandelt. Aus allen diesen Beispielen geht hervor, dass eine klare Relation besteht zwischen Proliferation und Reichtum an RNS. Die Teilungsfiguren zeigen praktisch immer eine ventrikuläre Lage. Sie sind massiert an den Schwerpunkten der Proliferation, wo auch besonders viel RNS angesammelt ist und die Proliferationszone stets die ganze Breite des zelligen Neuralrohrquerschnittes einnimmt.

Ein sehr interessanter Vergleich ergibt sich aus der Gegenüberstellung unserer Befunde zu den Verhältnissen bei der Entwicklung des Augenbechers (RICKENBACHER), der ja auch eine Ausstülpung der Hirnwandung darstellt. Bei der Entwicklung der Retina liegen die Mitosen stets an der an das ursprüngliche Lumen der Augenblase grenzenden Oberfläche. Diese "ventrikuläre" Lage dehnt sich anfänglich über die ganze Ausdehnung des inneren Augenbecherblattes aus, das entsprechend dem Hirnrohr in diesem Stadium einen einschichtig-mehrschichtigen Aufbau zeigt. Mit dem Eintreten der Differenzierung zeigen sich aber bald einige Abweichungen von den im Neuralrohr beobachteten Vorgängen: die Ausbildung der Ganglien- und Stützzellen nimmt in den mittleren, um die optische Achse gelegenen Retinapartien ihren Anfang und die differenzierten Zellen nehmen bald die ganze Breite der Retina ein. So wird die Proliferationszone von der Mitte aus immer mehr nach beiden Seiten gegen den vor-

deren Augenbecherrand zurückgedrängt, sie kann aber immerhin auch noch in den ältesten Stadien unserer Untersuchungsreihe aufgefunden werden. Beim Vergleich dieser Vorgänge mit denen im Neuralrohr entspricht der vordere Augenbecherrand den dorsal und ventral gelegenen Schwerpunkten. Im Neuralrohr bleibt die Proliferationszone auch im Bereich der Seitenplatten erhalten und die Differenzierungszone nimmt an keiner Stelle die ganze Wandbreite ein. In der Retina hingegen verschwindet die Proliferationszone in den intermediären Partien, an dieser Stelle differenzieren sich die Stäbchen und Zapfen aus. Das von uns angeführte Beispiel des Auswachsens der beiden Grosshirnhemisphaeren ist den Verhältnissen am vorderen Augenbecherrand praktisch gleichzusetzen: dorsal von der Ausstülpungsstelle bleibt längere Zeit eine die ganze Wandbreite einnehmende Anschwellung der Proliferationszone erhalten, von der aus Zellen sowohl ins Zwischenhirn als auch in die Wandung der Hemisphaeren nachgeliefert werden. Im allgemeinen aber entsprechen die Neuralrohrverhältnisse bei Triton eher den von RICKENBACHER untersuchten Vorgängen der Augenentwicklung beim Hühnchen, wo die Proliferationszone über den ganzen Retinaumfang lange Zeit erhalten bleibt und die differenzierten Zellen nach innen gegen den Glaskörperaum nachgeschoben werden.

In der Arbeitszelle liegt die RNS angelagert an Granula, die kettenartig hintereinander aufgereiht sind und unter der Zelloberfläche sowie um den Kern herum Netze bilden. Wenn im Verlauf der Neuralrohrentwicklung die Menge der RNS zunimmt, werden die einzelnen pyroninaffinen Granula nicht grösser, sondern zahlreicher, wie das bereits RICKENBACHER beschrieben hat. Während der Mitose nimmt die Zahl der pyroninaffinen Granula in der Zelle ab, die Hauptmasse der RNS ist an die Spindelfasern angelagert. Unter den ausdifferenzierten Zellen weisen nur die erwähnten grossen Ganglienzellen mit grossen chromatinarmen Kernen an der Neuralrohrperipherie im Cytoplasma einen erhöhten RNS-Gehalt in Form der bei der MPF intensiv rot gefärbten bröcklig-scholligen Tigroidsubstanz auf. Eigentlich ist es nach dem Gesagten eigenartig, dass die Ganglienzelle als höchsstdifferenzierte Zelle des Organismus so viel RNS enthält. Dieser Gehalt steht aber nicht in Zusammenhang mit Proliferation und Wachstum, sondern mit der trophischen Funktion, die die Nervenzelle im Rahmen des Neurons ausübt.

ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit berichtet über die Zusammenhänge zwischen Proliferation und Verteilungsmuster der Ribonukleinsäure im Verlaufe der normalen Neuralrohrentwicklung von *Triton alpestris*. Zonen mit intensiver Mitose-tätigkeit weisen mehr Ribonukleinsäure auf als Stellen, wo Differenzierung im Vordergrund steht. Unter den ausdifferenzierten Zellen weisen die Ganglienzellen in Form der NISSL-Substanz viel Ribonukleinsäure auf, die aber hier mit der trophischen Funktion der Zelle zusammenhängt.

L I T E R A T U R

- BODENSTEIN, D. J. exper. Zool. 104, 311 (1947)
- BODENSTEIN, D. und KONDRITZER, A. J. exper. Zool. 107, 109 (1948)
- BRACHET, J. Acidi nucleici, proteine e differenziamento,
Turin (1949)
Embryol. chimique S. 202 (1944)
- CAGIANUT, B. Schweiz. Z. f. Path. Bakt. XI, 598 (1948)
Rev. Suisse d. Zool. 56, 18, Febr. (1949)
Z. f. Zellforsch. 34, 471 (1949)
- CASPERSSON, T. Chromosoma 1, (1940)
- HAMBURGER, V. J. of comp. Neurol. 88, 273 (1948)
- NOVIKOFF, A., und POTTER, V. J. biol. Chem. 173, 233 (1948)
- RICKENBACHER, J. Rev. Suisse d. Zool. 58, 456 (1951)
Roux'Arch. f. Entw. mech. 145, 387 (1952)
- SCHENK, R. Roux'Arch. f. Entw. mech. 144, 448 (1950)
- TÖNDURY, G. Roux'Arch. f. Entw. mech. 141, 58 (1941)
Roux'Arch. f. Entw. mech. 142, 1 (1943)
Acta anatom. 4, 269 (1947)

CURRICULUM VITAE

Silvio Vinzens, geboren in Chur am 27. Januar 1924, von Luven GR. 5 Klassen Primarschule in Chur. 7 Klassen Gymnasium an der Bündner Kantonsschule in Chur. 1943 Maturität Typ A. Dann Medizinstudium an der Universität Zürich. 1946 Naturwissenschaftliche Prüfung, 1947 Anatomisch-physiologische Prüfung, 1950 Staatsexamen. 1951/52 Assistent am Anatomischen Institut der Universität Zürich, anschliessend während eines halben Jahres Assistenzarzt an der Kantonalen Heilanstalt Burghölzli Zürich. Seit Oktober 1952 Assistenzarzt an der Neurochirurgischen Universitätsklinik Zürich.

